



PCT
WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : B01J 20/32, G01N 30/48	A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 96/14151 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 17. Mai 1996 (17.05.96)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP95/04217 (22) Internationales Anmeldedatum: 26. Oktober 1995 (26.10.95) (30) Prioritätsdaten: P 44 39 444.6 4. November 1994 (04.11.94) DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): MERCK PATENT GMBH [DE/DE]; Frankfurter Strasse 250, D-64293 Darmstadt (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): MÜLLER, Egbert [DE/DE]; Elbestrasse 70, D-64390 Erzhausen (DE). MACK, Margot [DE/DE]; Gartenstrasse 13, D-64689 Grasellenbach (DE). BRITSCH, Lothar [DE/DE]; Möselestrasse 20, D-79276 Reute (DE). (74) Gemeinsamer Vertreter: MERCK PATENT GMBH; Frankfurter Strasse 250, D-64293 Darmstadt (DE).		(81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i>
(54) Title: SEPARATING MATERIALS AND PROCESS FOR THEIR PREPARATION (54) Bezeichnung: TRENNMATERIALIEN UND VERFAHREN ZU IHRER HERSTELLUNG (57) Abstract <p>The invention concerns separating materials based on hydroxyl group-containing carriers whose surfaces are coated with covalently-bonded polymers. The invention further concerns processes for preparing these materials. The separating materials are characterized in that the polymers consist of identical recurring units of formula (I) $[-CH_2-CHX-]_n$, in which X means $CO-NH-CH_2-CH_2-SO_3H$ and n means 2 - 100.</p> (57) Zusammenfassung <p>Die Erfindung betrifft Trennmateriale auf Basis von hydroxylgruppenhaltigen Trägern, deren Oberflächen mit kovalent gebundenen Polymeren beschichtet sind, sowie Verfahren zu ihrer Herstellung. Die Trennmateriale sind dadurch gekennzeichnet, daß die Polymeren aus gleichen wiederkehrenden Einheiten der Formel (I) $[-CH_2-CHX-]_n$ bestehen, worin X $CO-NH-CH_2-CH_2-SO_3H$ und n 2-100 bedeuten.</p>		

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	GA	Gabon	MR	Mauretanien
AU	Australien	GB	Vereinigtes Königreich	MW	Malawi
BB	Barbados	GE	Georgien	NE	Niger
BE	Belgien	GN	Guinea	NL	Niederlande
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	NZ	Neuseeland
BJ	Benin	IE	Irland	PL	Polen
BR	Brasilien	IT	Italien	PT	Portugal
BY	Belarus	JP	Japan	RO	Rumänien
CA	Kanada	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SI	Slowenien
CI	Côte d'Ivoire	KZ	Kasachstan	SK	Slowakei
CM	Kamerun	LI	Liechtenstein	SN	Senegal
CN	China	LK	Sri Lanka	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
ES	Spanien	MG	Madagaskar	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	ML	Mali	UZ	Usbekistan
FR	Frankreich	MN	Mongolei	VN	Vietnam

Trennmaterialien und Verfahren zu ihrer Herstellung

5 Die Erfindung betrifft Trennmaterialien auf Basis von hydroxylgruppenhaltigen Trägern, deren Oberflächen mit kovalent gebundenen Polymeren beschichtet sind sowie Verfahren zu ihrer Herstellung.

10 Die erfindungsgemäßen Trennmaterialien können zur Trennung von Makromolekülen, insbesondere zur Fraktionierung von Biopolymeren, eingesetzt werden. Die Auftrennung und Reinigung biologischer Makromoleküle, wie Nucleinsäuren, Proteine, Enzyme, subzelluläre Einheiten, Peptide, monoklonale Antikörper oder ganze Zellen, hat im Hinblick auf die Gentechnologie und Biotechnologie große Bedeutung erlangt.

15 Bekannt ist z.B. der Einsatz von Ionenaustauschern zur Fraktionierung von biologischen Makromolekülen. Die herkömmlichen Materialien bestehen aus Polymeren wie Polymethacrylate, Polystyrole, Agarose, vernetztes Dextran oder Kieselgelen, die entsprechende funktionelle Gruppen tragen.

20 Aus der EP 337 144 sind Trennmaterialien auf Basis von hydroxylgruppenhaltigen Trägern, deren Oberflächen mit kovalent gebundenen Polymeren beschichtet sind, bekannt, wobei die Polymeren gleiche oder verschiedene wiederkehrende Einheiten darstellen, die durch Pfropfpolymerisation in Gegenwart von Cer(IV)-Ionen an den Träger gebunden werden.

25

30 Diese Trennmaterialien sind nicht in ihrer Gesamtheit optimal und weisen insbesondere im Hinblick auf das Herstellungsverfahren und die Pfropfungs- ausbeute noch erhebliche Nachteile auf.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein optimales Trennmaterial zur Verfügung zu stellen, das die erwähnten Nachteile nicht hat.

35

5 Gegenstand der Erfindung sind Trennmaterialien auf Basis von hydroxylgruppenhaltigen Trägern, deren Oberflächen mit kovalent gebundenen Polymeren beschichtet sind, die dadurch gekennzeichnet sind, daß die Polymeren aus gleichen wiederkehrenden Einheiten der Formel I bestehen



10 worin X CO-NH-CH₂-CH₂-SO₃H und
n 2-100, vorzugsweise 15-50,

bedeuten.

15 Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind Verfahren zur Herstellung dieser Trennmaterialien, die dadurch gekennzeichnet sind, daß man die Pfropfpolymerisation in Gegenwart von Cer(IV)-Ionen und von 1 bis 3,5 Mol/l anorganischer Salze im Polyacrylierungsansatz durchführt.

20 Dabei ist es besonders vorteilhaft, wenn die für die Polymerisation erforderlichen Monomere durch Umsetzung von Acrylat mit Aminoethansulfonsäure in wäßriger Lösung in Gegenwart eines Stabilisators herstellt und direkt zur Pfropfpolymerisation eingesetzt werden.

25 Überraschenderweise hat sich gezeigt, daß die erfindungsgemäßen Trägermaterialien für schnelle chromatographische Trennungen besonders geeignet sind. Die Trennmaterialien sind universell einsetzbar für die Ionenaustauschchromatographie von Makromolekülen, insbesondere von Biopolymeren.

30 Die erfindungsgemäßen Trennmaterialien bestehen aus Trägerteilchen mit Hydroxylgruppen, auf die über die α-C-Atome der Hydroxylgruppen ein polymeres Material, ausgehend von dem Monomeren Sulfoethylacrylamid aufgepfropft ist.

35

Als Trägerteilchen kommen alle allgemein bekannten porösen und unporösen Chromatographieträger, die primäre oder sekundäre, aliphatische Hydroxylfunktionen an der Oberfläche aufweisen, in Frage.

- 5 Bevorzugt sind dabei beispielsweise hydrophile Polymere auf Acrylat- und Methacrylatbasis, Polymere auf Polyvinylalkohol-Basis, diolsubstituierte Kieselgele, Polysaccharide auf Agarose-Basis, Cellulose, Cellulosederivate oder Polymere auf Dextran-Basis. Es können aber selbstverständlich auch andere Polymere oder Copolymere auf der Grundlage von Monomeren wie Vinylverbindungen, Acrylamid, (Meth)Acrylsäureestern oder
10 (Meth)Acrylnitril in hydroxylierter Form eingesetzt werden.

- Die Durchführung von schnellen chromatographischen Trennungen im sogenannten Down stream processing hat in letzter Zeit zunehmende
15 Bedeutung bekommen. Zwei wichtige Aspekte sprechen z.B. bei der Proteinreinigung für die Durchführung einer schnellen Trennung: Ein zu langer Kontakt des zu reinigenden Proteins mit dem Trägermaterial führt zu einem Abfall der biologischen Aktivität und die bei einem Zellaufschluß freigesetzten Proteasen zerstören bei einer langen Elutionsdauer die
20 Proteine.

- Eine wesentliche Voraussetzung für die Durchführung einer schnellen Trennung ist jedoch, daß die Proteinbindungskapazität unabhängig von der linearen Flußrate ist. Durch die Konstruktion von Partikeln mit durchgehenden Poren sind Materialien für die sehr schnelle Chromatographie mit linearen Flußraten von größer 1000 cm/h entwickelt worden. Bisher
25 nicht bekannt ist jedoch, daß auch die Art des gebundenen Liganden einen Einfluß auf die Eignung eines Trägermaterials für die schnelle Chromatographie hat.

- 30 Es wurden nun festgestellt, daß es eine Abhängigkeit zwischen der chemischen Struktur eines Liganden (bei einem Kationenaustauscher) und der Höhe der sogenannten dynamischen Proteinbindungskapazität (Durchbruchskapazität in Abhängigkeit vom linearen Fluß) gibt.

35

5 Zur Bestimmung der dynamischen Proteinbindungskapazität wurde das Monomer Sulfoethylacrylamid in Gegenwart von Cer(IV)-Ionen auf Fractogel gepfropft und in eine Säule gefüllt (Superformance® 50-10 mm). Als Probe wurde eine Lösung von 10 mg/ml Lysozym in Phosphatpuffer eingesetzt. Dabei zeigte sich, daß bei einer linearen Flußrate von 720 cm/h die dynamische Proteinkapazität sich nur um 25,6 % verringert hat. Bei gleicher Versuchsdurchführung, jedoch mit Sulfoisobutylacrylamid als aufgepfropftem Monomer hatte sich die dynamische Proteinkapazität um 65,5 % verringert. Das zeigt, daß überraschenderweise die Art des gebundenen Liganden einen großen Einfluß auf die Eignung eines Trägermaterials für die schnelle Chromatographie hat.

15 Desweiteren wurde überraschenderweise festgestellt, daß die Verwendung höherer Konzentrationen von anorganischen Salzen im Ansatz zur Pfropfpolymerisation zu einer erheblichen Steigerung der Pfropfungsausbeute führt. Das zeigt sich im Falle von aufgepfropften Ionenaustauschern vom Typ der substituierten Polyacrylamide unter anderem durch eine stark erhöhte dynamische Bindungskapazität für Proteine. Aus diesem überraschenden Effekt ergibt sich eine bisher noch nicht bekannte Steuerungsmöglichkeit für die erreichbare Ligandendichte auf der inneren Oberfläche von Chromatographieträgern und anderweitig verwendeten partikulären oder membranartigen Materialien, die durch Pfropfpolymerisation auf das Basismaterial hergestellt werden. Dieser Effekt greift insbesondere bei der Verwendung hydrophiler Monomere, die stark saure Gruppen enthalten, wie im Falle des erfindungsgemäß verwendeten Sulfoethylacrylamids.

20 Die Konzentration der anorganischen Salze im Polyacrylierungsansatz für die Pfropfpolymerisation sollte im Bereich von 1 bis 3,5 Mol/l liegen, vorzugsweise bei 2 bis 3 Mol/l. Dabei können alle Salze verwendet werden, die mit den zur Initiierung der Polymerisation verwendeten Startern, z.B. Cer(IV)-Ionen, keine oder nur eine geringe Wechselwirkung eingehen. Für das erfindungsgemäße Verfahren geeignete anorganische Salze sind z.B. Natriumchlorid, Natriumperchlorat, Natriumsulfat, Ammoniumsulfat usw., sowie Gemische dieser Salze.

35

Durch Zusatz höherer Konzentrationen anorganischer Salze im Polyacrylierungsansatz (z.B. 3 Mol/l Natriumchlorid oder 1 Mol/l Natriumchlorid plus 1 Mol/l Natriumperchlorat) wird z.B. die Pflropfungsausbeute für Sulfoethylacrylamid auf Fractogel® HW 65 (S) oder Fractogel® HW 65 (M) gegenüber vergleichbaren Ansätzen mit niedrigerer Salzkonzentrationen (1 Mol/l Natriumchlorid) bis zum Dreifachen erhöht. Abb. 1 zeigt die Abhängigkeit der dynamischen Bindungskapazität von Fractogel® EMD SE-650 (S) für Lysozym von der Dauer der Polyacrylierung in Gegenwart von 3 Mol/l Natriumchlorid (Kurve a), von 1 Mol/l Natriumchlorid bzw. ohne Salzzusatz (Kurve b). Die Ansatzgröße betrug jeweils 2,5 l Gel in 12,5 l Gesamtvolumen. Der Vergleich mit Ansätzen ohne Salzzusatz zeigt die deutliche Verbesserung des Ergebnisses hinsichtlich der erreichbaren Bindekapazität für Protein. Darüberhinaus wird deutlich, daß die durch Aufnahme einer derartigen "Pflropfungskinetik" ermittelten Reaktionsbedingungen auch im Falle von Chargenwechsel wichtiger Komponenten eine reproduzierbare Steuerung der Proteinbindungskapazität des Produkts zuläßt.

Die verschiedenen anorganischen Salze sind in Abhängigkeit von den durch sie in den Polymerisationsansatz eingebrachten Ionenarten von unterschiedlichem Einfluß auf die Pflropfungsausbeute. Die höchsten Bindekapazitäten des Pflropfprodukts für Lysozym wurden mit 200 mg/ml Gel durch Polyacrylierung in Gegenwart von 1 Mol/l Natriumperchlorat erhalten. Hierbei war außerdem eine Konzentration von 1 Mol/l Natriumchlorid als Folge der zuvor durchgeführten Neutralisation der eingesetzten Monomerlösung im Reaktionsansatz vorhanden. Ansätze, bei denen der Zusatz von Natriumperchlorat weggelassen wurde, erreichten dagegen auch bei auf 12 Stunden verlängerter Reaktionszeit maximale Bindungskapazitäten von 65 mg/ml Gel. Steigerungen der Bindekapazität auf Werte zwischen 100 und 180 mg/ml wurden durch Zusatz von Natriumchlorid, Ammoniumsulfat und Natriumsulfat anstelle von Natriumperchlorat und in Konzentrationen von 1 bis 3,5 Mol/l erhalten.

Die Herstellung der Trennmaterialien nach der Erfindung erfolgt durch Pflropfpolymerisation mit Sulfoethylacrylamid, das seinerseits durch Um-

setzung von Acrylsäurederivaten mit Aminoethansulfonsäure hergestellt sind. Als bevorzugtes Acrylsäurederivat wird Acrylsäurechlorid eingesetzt, das frisch destilliert und bei -20 °C im Dunkeln aufbewahrt etwa zwei Jahre für den erfindungsgemäßen Einsatz geeignet bleibt. Für die Um-

5 setzung von Acrylsäurechlorid mit Aminoethansulfonsäure ist der Zusatz eines Stabilisators erforderlich. Dieser wird dem Acrylsäurechlorid unmittelbar vor der Verwendung zugesetzt und kann dann innerhalb weniger Stunden und ohne wärmer als 10 °C zu werden in die Acylierungsreaktion eingesetzt werden. Das so stabilisierte Sulfoethylacrylamid ist als wäßrige

10 Lösung bei Temperaturen unterhalb von 10 °C im Dunkeln mehrere Monate lang ohne feststellbare nachteilige Veränderungen haltbar.

Als wirksamer Stabilisator nach der vorliegenden Erfindung hat sich insbesondere 4-Methoxyphenol erwiesen. Der Stabilisator sollte in Konzentrationen von etwa 0,01 bis 2 mM im Pfröpfungsansatz eingesetzt werden.

15

Die wäßrige Lösung eines nach diesem Verfahren hergestellten Sulfoethylacrylamids zeigt bei der Analyse mit HPLC keine Hinweise auf anwesende Nebenprodukte. Damit ist auch gezeigt, daß die vorausgegangene kurzzeitige Stabilisierung des Acrylsäurechlorids durch 4-Methoxyphenol als ausreichend zur Vermeidung der Oligomerisierung anzusehen ist. Überraschenderweise wirkt sich die Anwesenheit des bisher ungebräuchlichen Stabilisators während der nachfolgenden Pfröpfpolymerisation nicht störend auf das Ergebnis der Polymerisation aus.

20

25

Beispiel 1

Acylierung von Aminoethansulfonsäure

30 Eine Lösung von 50 g Aminoethansulfonsäure und 32 g Natriumhydroxid-Plätzchen in 400 ml destilliertem Wasser wird mit einem Eisbad auf 5 °C abgekühlt. In diese Lösung werden 32 ml Acrylsäurechlorid, dem kurz vorher 3,85 mg 4-Methoxyphenol zugegeben werden, innerhalb einer Stunde zugetropft, so daß die Temperatur 8 °C nicht überschreitet. Das

35 Eisbad wird dann entfernt, mit 25%iger Salzsäure auf einen pH-Wert von 4 eingestellt und noch eine Stunde nachgerührt.

Beispiel 2**Polymerisation auf Fractogel®**

- 5 Zu einer Suspension von 400 ml Fractogel® HW 65 S und 1200 ml destilliertem Wasser, das 292,2 g Natriumchlorid enthält, werden 810 ml der Lösung nach Beispiel 1 und die Starterlösung aus 14,5 g Ammoniumcer(IV)nitrat, gelöst in 50 ml 0,5 M Salpetersäure, hinzugeben und 5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit Hilfe einer Glasfritte P2 abgesaugt und anschließend mit folgenden Waschlösungen gewaschen:

- je 500 ml Schwefelsäure 0,2 M/Natriumsulfit 0,2 M,
destilliertes Wasser, zweimal,
15 Schwefelsäure 0,2 M,
destilliertes Wasser, zweimal,
Natronlauge 1 M,
destilliertes Wasser,
Phosphatpuffer, 0,2 M, pH 7.

20

Das erhaltene Gel wird in 0,02 M Phosphatpuffer (pH 7) dem 0,2 % Natriumazid zugesetzt sind, oder auch in Ethanol 20 %/150 mM Natriumchlorid gelagert.

- 25 Anstelle von 292,2 g Natriumchlorid können z.B. auch 330,35 g Ammoniumsulfat oder 351,15 g Natriumperchlorat eingesetzt werden.

Beispiel 3

- 30 Bestimmung der dynamischen Proteinbindungskapazität

- a) Eine Superformance®-Säule 50-10 mm wird mit dem Trennmateri-
al aus Beispiel 2 gefüllt und 50 ml einer Probe von 10 mg/ml Lysozym
in 20 mM Phosphatpuffer, pH 7, aufgebracht. Das Eluat wurde bei
35 280 nm gemessen mit folgendem Ergebnis:

	Lineare Flußrate [cm/h]	mg Lysozym/ml gepacktes Gel
5	40	57,8
	80	55,8
	200	54,8
	400	49,8
	720	43,0

10

Die Tabelle zeigt, daß sich die dynamische Proteinbindungskapazität bei einer linearen Flußrate von 720 cm/h mit dem Trennmaterial nach Beispiel 2 nur um 25,6 % verringert hat.

15

- b) Die Bestimmung wird mit einem Trennmaterial durchgeführt, das anstelle von Sulfoethylacrylamidgruppen mit Sulfoisobutylacrylamidgruppen beladen ist. Die Durchführung erfolgte analog Beispiel 3a) mit folgendem Ergebnis:

	Lineare Flußrate [cm/h]	mg Lysozym/ml gepacktes Gel
20	40	74,8
	80	66,9
	200	49,4
25	400	36,6
	720	25,8

30

Die Ergebnisse zeigen, daß bei einer linearen Flußrate von 720 cm/h die dynamische Proteinbindungskapazität nur noch einen Wert von 35 % der Ausgangskapazität hat.

35

Patentansprüche

1. Trennmaterialien auf Basis von hydroxylgruppenhaltigen Trägern,
deren Oberfläche mit kovalent gebundenen Polymeren beschichtet
sind, dadurch gekennzeichnet, daß die Polymeren aus gleichen
wiederkehrenden Einheiten der Formel I bestehen



worin X CO-NH-CH₂-CH₂-SO₃H und
n 2-100

bedeuten.

2. Verfahren zur Herstellung von Trennmaterialien gemäß Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet, daß man die Pfropfpolymerisation in
Gegenart von Cer(IV)-Ionen und von 1 bis 3,5 Mol/l anorganischer
Salze im Polyacrylierungsansatz durchführt.
3. Verfahren zur Herstellung von Trennmaterialien nach Anspruch 2,
dadurch gekennzeichnet, daß man das Monomere durch Umsetzung
von Acrylat mit Aminoethansulfonsäure in wäßriger Lösung in
Gegenwart eines Stabilisators herstellt und direkt zur Pfropfpoly-
merisation einsetzt.
4. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß als
Stabiliator 4-Methoxyphenol eingesetzt wird.

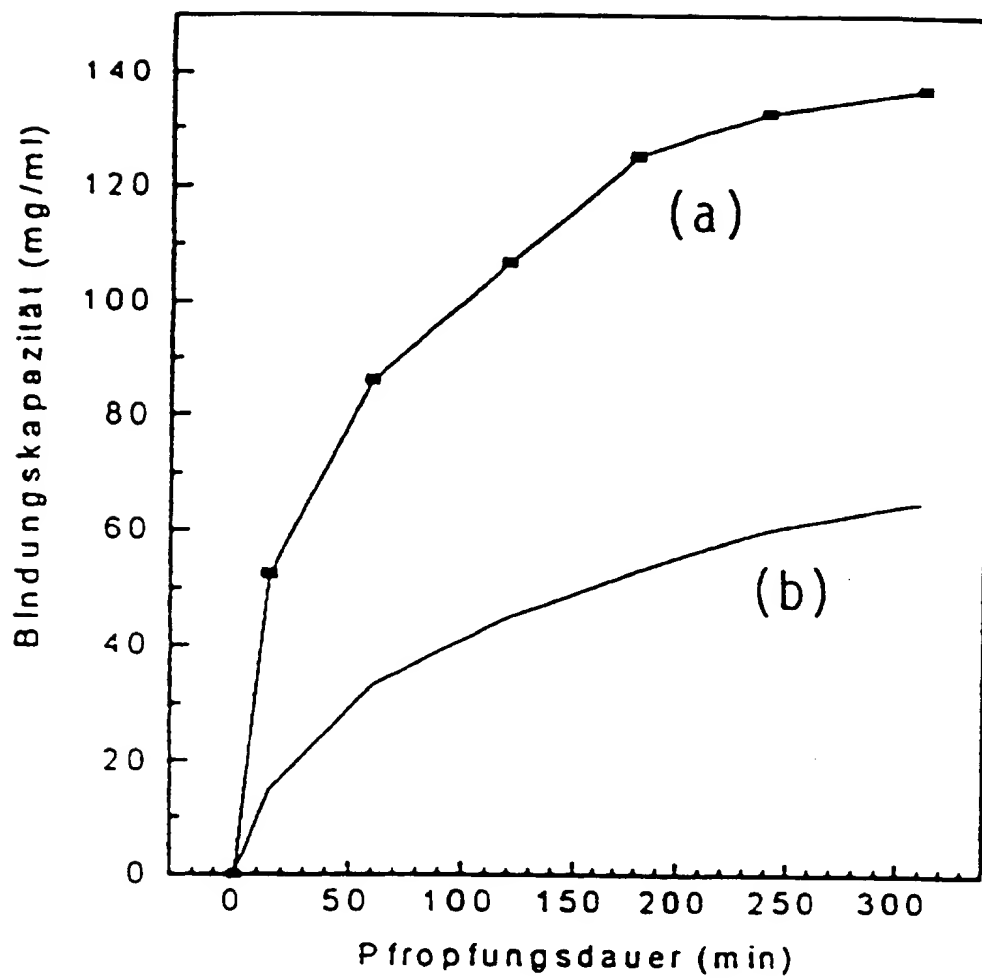


Abb. 1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 95/04217

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC 6 B01J20/32 G01N30/48

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 B01J G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US,A,4 547 463 (SAKATA) 15 October 1985 see column 2, line 50-69 see column 4, line 23 - column 5, line 20 ---	1,2
A	US,A,5 021 160 (WOLPERT) 4 June 1991 see column 6, line 5 see column 7, line 3 - column 8, line 6 ---	1
A	EP,A,0 259 037 (KAO CORP.) 9 March 1988 see page 2, line 40 - page 3, line 28 ---	1,3,4
A	US,A,4 617 321 (MACDONALD) 14 October 1986 see column 3-4; claims 1-4 -----	3

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

A document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

27 February 1996

Date of mailing of the international search report

11-03-1996

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Wendling, J-P

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

Inter nal Application No

PCT/EP 95/04217

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US-A-4547463	15-10-85	JP-A- 57189692	22-11-82
US-A-5021160	04-06-91	WO-A- 9110498	25-07-91
EP-A-259037	09-03-88	CA-A- 1303008	09-06-92
		JP-A- 63152667	25-06-88
		US-A- 4812486	14-03-89
US-A-4617321	14-10-86	NONE	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 95/04217

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES IPK 6 B01J20/32 G01N30/48		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) IPK 6 B01J G01N		
Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US,A,4 547 463 (SAKATA) 15.Oktober 1985 siehe Spalte 2, Zeile 50-69 siehe Spalte 4, Zeile 23 - Spalte 5, Zeile 20 ---	1,2
A	US,A,5 021 160 (WOLPERT) 4.Juni 1991 siehe Spalte 6, Zeile 5 siehe Spalte 7, Zeile 3 - Spalte 8, Zeile 6 ---	1
A	EP,A,0 259 037 (KAO CORP.) 9.März 1988 siehe Seite 2, Zeile 40 - Seite 3, Zeile 28 ---	1,3,4
A	US,A,4 617 321 (MACDONALD) 14.Oktober 1986 siehe Spalte 3-4; Ansprüche 1-4 -----	3
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div> <input type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen </div> <div> <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie </div> </div>		
<div style="display: flex;"> <div style="flex: 1;"> <p>* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :</p> <p>"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist</p> <p>"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)</p> <p>"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht</p> <p>"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist</p> </div> <div style="flex: 1;"> <p>"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist</p> <p>"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden</p> <p>"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist</p> <p>"Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</p> </div> </div>		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche <div style="text-align: center; font-size: 1.2em;">27. Februar 1996</div>		Absendedatum des internationalen Recherchenberichts <div style="text-align: center; font-size: 1.5em;">11-03-1996</div>
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+ 31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter <div style="text-align: center; font-size: 1.2em;">Wendling, J-P</div>

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 95/04217

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US-A-4547463	15-10-85	JP-A- 57189692	22-11-82
US-A-5021160	04-06-91	WO-A- 9110498	25-07-91
EP-A-259037	09-03-88	CA-A- 1303008	09-06-92
		JP-A- 63152667	25-06-88
		US-A- 4812486	14-03-89
US-A-4617321	14-10-86	KEINE	